

Biokemijski mehanizmi sinteze spolnih hormona u domaćih sisavaca



Erika Gamulin, Marko Samardžija*, Ivan Butković i Jelka Pleadin

Uvod

Hormoni su skupna oznaka kemijskih signalnih tvari (Starling, 1909.) koje se sintetiziraju i u malim količinama izlučuju iz endokrinih žlijezda. Potom odlaze u krvotok gdje dalje odlaze u udaljene ciljane organe (tzv. tkivna specifičnost) putem kojih se u organizmu reguliraju biokemijski procesi. U reproduktivnom pogledu, u sustavu kontroliranja sinteze hormona primarnu ulogu imaju: hipofiza, epifiza, gonade (jajnici i testisi) te tijekom gravidnosti posteljica (placenta) (Arthur i sur., 1997.). Uz navedene endokrine žlijezde i organe, postoje žlijezde i organi, odnosno dijelovi organa koji imaju određeni utjecaj na endokrinologiju rasplodivanja, kao što su: nadbubrežne žlijezde, štitnjača, maternica i hipotalamus. U ženskom organizmu stvaraju se dva, po fiziološkom djelovanju, različita tipa hormona: estrogeni (folikularni hormoni) i gestageni (hormoni žutog tijela). Jajnici imaju dvije osnovne funkcije: germinativnu i endokrinu. Primjerice, jajnici novorođenog teleta sadrže oko 150.000 primordijalnih folikula; svaki taj folikul sadrži jajnu stanicu koja je okružena jednoslojnim

epitelom *theca interna*. Razvoj folikula je intraovarijski i sve do puberteta folikuli se razvijaju do stupnja u kojem će sadržavati *thecu internu*, a zatim započinje njihova atrezija. Spolni hormoni, njihova fiziološka sekrecija te djelovanje osnova su za reprodukciju (Tomašković i sur., 2007.). U ovom će radu biti pobliže objašnjeni biokemijski procesi nastanka spolnih hormona i njihov učinak na organizam domaćih sisavaca.

Strukturne karakteristike hormona

Hormone prema kemijskoj strukturi dijelimo na oligopeptide i proteine (tzv. proteohormoni), derivate aminokiselina te steroide. Biosinteze peptidnih i steroidnih hormona se jako razlikuju, a glavne karakteristike će biti objašnjene u narednim poglavljima. Poznate su dvije primarne reakcije djelovanja hormona: steroidni hormoni djeluju ponajprije na kontrolu aktivnosti gena, tj. transkripciju te hormoni koji reagiraju s nekim drugim membranskim receptorom da bi izazvali proizvodnju drugog glasnika koji tada

Erika GAMULIN, dr. med. vet., Zagreb, Hrvatska, dr. sc. Marko SAMARDŽIJA*, dr. med. vet., (dopisni autor, e-mail: smarko@vef.hr), redoviti profesor, Ivan BUTKOVIĆ, dr. med. vet., asistent, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska; dr. sc. Jelka PLEADIN, dipl. ing. biotehnol., znanstvena savjetnica, izvanredna profesorica, Hrvatski veterinarski institut, Zagreb, Hrvatska

prenosi djelovanje u unutrašnjost stanice (Rupić, 2015.).

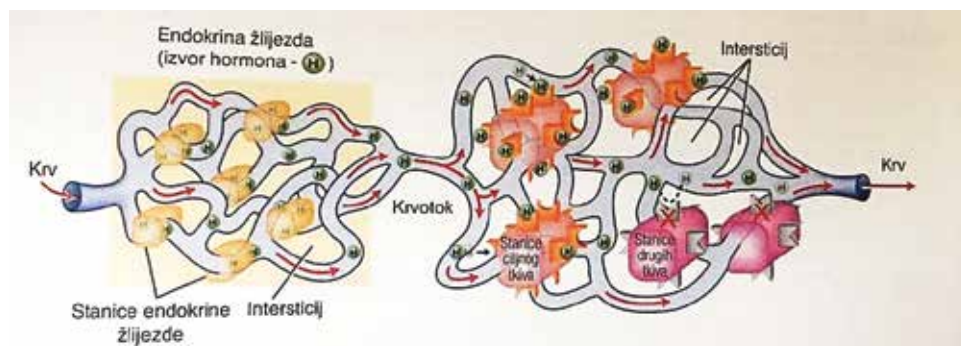
Steroidi su izvedeni iz strukture fenantrenog prstena na koji je pričvršćen pentanski prsten; to daje potpuno hidrogenizirani oblik, ciklopentano-perhidrofenantren ili strukturu sterana. U sisavaca postoji šest skupina steroidnih hormona koji se mogu klasificirati na strukturnoj i biološkoj (hormonskoj) osnovi. To su estrogini i progestini (ženski spolni steroidi), androgeni (muški spolni steroidi), mineralokortikoidi (aldosteron), glukokortikoidi (kortizol) i vitamin D. Svi oni nastaju iz kolesterola.

Glavna struktura prstena za kolesterol je potpuno zasićena kolestanska struktura prstena. Steroidni hormoni su topljivi u mastima tako da mogu ulaziti u sve stanice tijela, jer im lipidne stanične barijere ne predstavljaju barijeru. Određene reakcije tkiva zahtijevaju prisutnost određenih receptora u stanicama za određeni steroidni hormon. Vežanje hormona za receptor je primarni zadatak u aktivnosti samog hormona. Interakcija vežanja prouzroči biološku reakciju hormona. Svi receptori su definirani kriterijem ograničenog kapaciteta vežanja - receptori su zasićeni, što dovodi do ograničenja broja molekula hormona koje mogu kriterijem vezivanja ući u stanicu, s određenim hormonima te kriterijem stvaranja reakcije nakon vezivanja (Slika 1).

Steroidni hormoni u stanice ulaze putem pasivne difuzije te se vežu na stanice. Pri samom ulasku u ciljnu stanicu, steroid komunicira sa svojim receptorom te dolazi do stvaranja kompleksa steroid - receptor. Kompleks je aktiviran i mijenja ekspresiju gena. Ciljna stanica odgovara povećanjem RNK sinteze s prijelomom glasničke mRNK koji odlazi u citoplazmu te dolazi do sinteze proteina. Učinak steroidnih hormona na ciljnim stanicama je izmijenjena funkcija stanica povezana s promjenom u uzorku proteinske sinteze.

Proteinski hormoni, poput luteinizirajućeg hormona (LH) i folikulostimulirajućeg hormona (FSH), ne ulaze u ciljnu stanicu radi manifestacije svojih učinaka, nego radi komunikacije s njihovim receptorima lociranim na plazmatskim membranama stanice. Vežanje izaziva mijenjanje konformacije receptora koji je integralni protein membrane. Prilikom toga, dolazi do aktivacije jednog ili više „drugih glasnika“.

„Drugi glasnici“ su tvari čija koncentracija unutar ciljne stanice poraste zbog djelovanja primarnog hormona, a opće značenje im se očituje u tzv. efektu pojačavanja. Osnovna zadaća im je prijenos hormonskog signala kroz membranu i provođenje tog signala kroz metabolizam stanice. Smatraju se aktivatorima unutar staničnih enzima, proteinskih kinaza, koji će utjecati na



Slika 1. Vežanje hormona na ciljna tkiva (Rupić, 2015.)

kolesterol u mitohondriju i konverziju u pregnenolon (Rupić, 2015.).

Sinteza i oslobađanje spolnih hormona

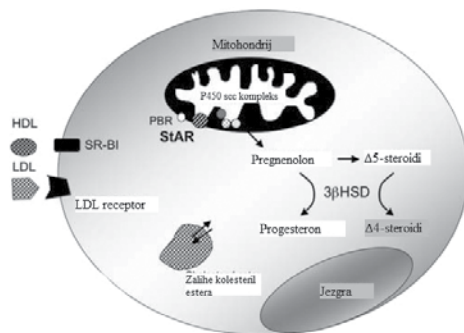
Regulacijski ciklus proizvodnje spolnih hormona je složen proces, a svi mehanizmi se odvijaju preko veze hipotalamus-hipofiza-jajnici. Tomašković i sur. (2007.) navode da važan utjecaj imaju i ekstrahipotalamički centri (kora velikog mozga, talamus i primozak) na koje djeluju olfaktorni, zvučni, svjetlosni i taktilni utjecaji iz okoline. U adenohipofizi pod utjecajem hipotalamusa dolazi do sinteze gonadotropnih hormona (FSH i LH) uz pomoć specifičnih gonadotropnih releasing hormona (GnRH). GnRH su peptidni hormoni koji putem portalnog krvotoka dolaze u adenohipofizu. Hipotalamus je centar s dvije funkcije: epizodično-toničnom i pulzatornom. Epizodično-tonični centar regulira sekreciju bazalne koncentracije gonadotropnih hormona, dok pulzatorni kontrolira porast koncentracije LH i posljedično izazivanje ovulacije. Gonadotropni hormoni djeluju na jajnike, folikuli rastu i sazrijevaju, pri čemu dolazi do porasta razine estrogenskih hormona. Jajnici putem negativne povratne sprege inhibiraju djelovanje epizodično-toničnog centra što dovodi do smanjene sekrecije GnRH za gonadotropne hormone.

Sinteza ženskih steroidnih hormona ovisi o funkciji jajnika. Koncentracije progesterona u luteolizi se brzo smanjuju (Greenspan i Baxter, 1994.). Razina estrogena neprekidno se brzo povećava tijekom folikularne faze ciklusa smanjujući se s nadolaznim predovulacijskim povećanjem gonadotropina nakon što granulosa, umjesto estrogena, počne proizvoditi progesteron. Steroidi su eliminirani konjugacijom s glukuronskom kiselinom i/ili sulfatima kako bi formirali mono- ili diglukoronide ili

sulfate. Navedeni su konjugati topljivi, a ekskrecija se odvija preko urina ili žuči. Konjugacija se pojavljuje većinom u jetri, a konjugati nemaju nikakve steroidne aktivnosti. Steroidi su zbog pretvorbe u spojeve koji su se uvelike smanjili biološku aktivnost, neaktivni. Na ovaj se način steroidi iz krvotoka brzo oslobađaju.

Steroidogeneza u gonadama

Steroidogeneza u reproduktivnim tkivima je važan proces i zbog toga je visoko reguliran na razini transkripcije, posttranskripcije i post-translacije (Chedrese, 2009.). Spolni steroidni hormoni sintetiziraju se u Leydigovim stanicama testisa, theca stanicama i granulosa stanicama folikula jajnika, ali i u drugim tkivima kao što su: placenta, kora nadbubrežne žlijezde i mozak. U steroidogenim stanicama kolesterol se transportira u mitohondrije putem steroidogenog akutnog regulacijskog hormona (StAR) (Slika 2). Unutar mitohondrija, enzim citokrom P₄₅₀ (P₄₅₀sc) cijepa bočni lanac kolesterola i pretvara ga u pregnenolon-steroid iz kojeg nastaju ostali spolni steroidni hormoni (Chedrese, 2009.). Leydigove stanice, theca, lutealni i placentalni trofoblasti posjeduju dodatno 3β-hidroksisteroid-dehidrogenazu/Δ4-Δ5 izomerazu (3β-HSD) koji pretvara progesteron u progesteron,



Slika 2. Steroidogeneza i sinteza progesterona iz kolesterola (Chederes, 2009.)

17 α -hidroksipregnenolon, dehidroepiandrosteron (DHEA) i androstenediol u 17 α -hidroksiprogesteron, androstenedion i testosteron. Steroidogeneza je u gonadama regulirana faktorima rasta i gonadotropinima, kao što je LH (Clark i sur., 2001.). Tri proteina koja posreduju u prvim koracima steroidogeneze u stanicama gonada su: StAR, P₄₅₀scc i 3 β -HSD.

LH ili njegov homolog stimulira StAR mRNK ekspresiju u mnogim steroidogenim stanicama. Tijekom razvoja folikula u jajnicima, StAR mRNK i proteini su izraženi u theca-intersticijskim stanicama većine vrsta, s izuzetkom goveda (Pescador i sur., 1996., Bao i Garverick 1998.), ali ne u stanicama granulose dok ne počne obilnije izlučivanje LH. S obilnijim povećanjem LH, StAR se dramatično povećava i postaje bitno snažno izražen u diferenciranim theca i stanicama granulose koje tvore *corpus luteum*. Steroidogene stanice granulose održavaju se i povećavaju StAR ekspresiju nakon ovulacije.

FSH potiče ekspresiju StAR mRNK u granuloznim stanicama koje prolaze kroz luteinizaciju. Ovisno o vrsti i tipu stanica, određeni faktori rasta mogu izravno djelovati na razine StAR mRNK ili mijenjaju djelovanje gonadotropina na transkripciju StAR gena (Sekar i sur., 2000., Manna i sur., 2006., Chedrese, 2009.).

Prvi enzimski korak u steroidogenezi je pretvorba kolesterola u pregnenolon pomoću P450scc (Miller, 2005.). Pregnenolon je proizvod tri uzastopne mono oksigenacije koje su katalizirane uz pomoć P450scc: 2 hidroksilacije bočnog lanca kolesterola do nastanka, najprije 22R-hidroksikolesterola, a zatim 20 α ,22R-dihidroksikolesterola i konačno cijepanje veza između ugljika 20 i 22 kako bi se oslobodili pregnenolon i 4-metilpentanska kiselina. Svaki korak zahtijeva 2 redukcijska ekvivalenta dobivena od feredoksin reduktaze i feredoksina. Zajedno s P450scc tvore

CSCC (kompleks cijepanja bočnog lanca kolesterola). Feredoksin reduktaza koristi NADPH kako bi smanjila svoju skupinu flavin adenin dinukleotid (FAD) i vezala feredoksin. Zatim, ovaj enzim prenosi dva elektrona. To potiče disocijaciju feredoksina na mjestu vezanja reduktaze i oslobađanje molekule za interakciju s P450scc (Lambeth i sur., 1982.). Feredoksin i feredoksin reduktaza prisutni su u višim količinama u steroidogenim tkivima nego u drugim vrstama tkiva u tijelu (Brentano i sur., 1992.). Razine feredoksina i feredoksin reduktaze istodobno rastu s P450scc u kultiviranim granuloznim stanicama štakora, a razine adrenodoksina i P450scc rastu tijekom lutealne faze u jajnicima krava te na taj način osiguravaju zalihe redukcijskih ekvivalenata (Rodgers i sur., 1986.). Sinteza steroida je regulirani proces. Kod nedostatka stimulacije, stanice unatoč prisutnosti P450scc mogu proizvesti malo ili ništa steroida. Dodavanje hidroksiliranog oblika kolesterola kao što je 22R-hidroksikolesterol, koji se slobodno raspršuje u mitohondrije, odmah se pretvara u steroid. To pokazuje da je CSCC konstantno aktivan i ograničava ga samo opskrba kolesterol supstrata. Ovo je ograničavajući korak u stvaranju steroida i provodi ga StAR (Stocco i Clark, 1996.).

StAR je specifičan protein koji prenosi kolesterol, a smatra se esencijalnim posrednikom prijenosa kolesterola u mitohondrij i posljedične aktivacije P450scc (Norman i Henry, 2014.). Nakon stimulacije trofičkih hormona, StAR se brzo sintetizira i odlazi u mitohondrije, gdje posreduje u prijenosu kolesterola iz vanjske mitohondrijske membrane u unutarnju - siromašnu kolesterolom. Egzogeno izražavanje ovog proteina u Leydigovim tumorskim stanicama rezultira proizvodnjom steroida u odsutnosti stimulacije. Ako se stanice potiču na stvaranje steroida u prisutnosti inhibitora sinteze proteina, StAR nije proizveden (Krueger i Orme-Johnson,

1983.), kolesterol se ne prenosi na unutarnju membranu, a steroidogeneza je zaustavljena (Ferguson, 1963.).

Stoga, akutna faza steroidogeneze ovisi o intermembranskom prijenosu kolesterola putem StAR-a. Djelovanje StAR-a proizlazi iz stimulacije putova povezanih s cAMP, protein kinazom C, kloridom i kalcijem. Dok je funkcija StAR-a prilično jednostavna, mehanizam djelovanja ostaje neobjašnjen. StAR je proizveden kao 285-aminokiselinski prekursor s prividnom molekularnom masom od 37kDa (Krueger i Orme-Johnson, 1983.). Njegov N-terminalni signalni slijed usmjerava StAR u mitohondrij. Tijekom ulaska, signalni slijed se „razbija“, što dovodi do nastanka zrelih oblika StAR-a od 30 kDa i jednom kad se nađe unutar mitohondrija, više ne podržava prijenos kolesterola. Ustvari, blokira ulazak StAR-a u mitohondrij tako što briše N-terminal, ali to ne sprječava StAR da potiče steroidogenezu. Kolesterol se prisutan u cirkulacijskom sustavu veže za lipoprotein male gustoće (LDL) te se unosi preko LDL receptora u stanice gdje se otpušta. Moguće je da se kolesterol biosintetizira *de novo* i iz acetata u endoplazmatskom retikulumu. Slobodni kolesterol može biti esterificiran s acilkoenzimom A kolesterol aciltransferaza (ACAT) i pohranjen u kapljicama lipida (Norman i Henry, 2014.).

Postoje različita objašnjenja o tome kako StAR prouzroči prijenos kolesterola. Jedan primjer govori da StAR djeluje s kofaktorima kao što je periferni benzodipiranski receptor (PBR) i anionski kanal ovisan o naponu (VDAC), dok *in vitro* istraživanja pokazuju da StAR može i samostalno transportirati kolesterol (Bose i sur., 2008.). Poznato je da je C-terminalni kraj StAR-a nužan za njegovu funkciju. Ova regija sadrži tzv. lipidnu prijenosnu domenu povezanu sa StAR-om (START) (Ponting i Aravind, 1999.). Sve StAR inaktivacijske mutacije, koje se nazivaju i START domena1 (StarD1), utječu na

ovu regiju. START domena1 oblikuje strukturu koja omogućava vezni džepić za kolesterol. Stoga, StAR može vezati kolesterol na vanjsku membranu i osloboditi ga unutar mitohondrija preko nepoznatog mehanizma na mjestima kontakta između membrana.

Za intermembranski prijenos kolesterola putem StAR-a potrebna je ATP hidroliza i netaknuti elektrokemijski potencijal kroz cijelu unutarnju mitohondrijsku membranu. Ova je aktivnost pojačana fosforilacijom StAR-a preko protein kinaze A (PKA). Mehanizam kojim fosforilacija mijenja aktivnost StAR-a je nepoznat, ali jedno istraživanje pokazuje da povećava stabilnost StAR proteina (Clark i sur., 2001.). Modifikacija se, vjerojatno, događa prije unosa. Pretpostavlja se da je PKA vezana za vanjsku membranu mitohondrija putem vezanja njegove R2A regulacijske podjedinice s proteinom 121 A-kinaze (AKAP121) (Dyson i sur., 2008.). Ovakva PKA može pomoći dovesti početni StAR u kontakt s mitohondrijem preko svoje povezanosti s vanjskom membranom.

Steroidogene stanice sadrže druge, obično manje putove za pokretanje sinteze steroida neovisno o StAR-u kao što je u ljudskoj posteljici, koja proizvodi progesteron u odsutnosti StAR ekspresije, a može ga zamijeniti i njegov homolog MLN64 (engl. *metastatic lymph node 64 protein*) ili StARD3 (engl. *StAR-related lipid transfer domain protein 3*) (Stocco i Clark 1996., Alpy i sur., 2001.), što još uvijek nije dokazano.

Hidroksilirane molekule kolesterola, koje se nazivaju i oksisteroli uključene su, na određeni način, u steroidogenezu neovisnu o StAR-u, kao u testisima i mozgu (Prasad i sur., 1984.).

Nakon što se pregnenolon sintetizira, može se dalje metabolizirati pomoću 3 β -HSD ili citokroma P450 17 α -hidroksilaze/17,20-liaze (P450c17), ovisno o vrsti i tipu stanice. Oba se enzima nalaze na endoplazmatskom retikulumu,

ali se 3β -HSD nalazi i u matriksu unutarnje mitohondrijske membrane. Tamo se povezuje s CSCC, čime se olakšava proizvodnja progesterona (Chedrese, 2009.).

3β -HSD općenito pretvara $\Delta 5$ - 3β -hidroksisteroide u hormonski aktivne $\Delta 4$ - 3 -ketosteroide. Ovaj proces, koji ovisi o NAD^+ , odvija se u dva koraka: katalizirana dehidrogenacija i izomerizacija dvostruke veze u molekuli steroida (Payne i sur., 1997.). Poput većine steroidogenih enzima, ona je konstitutivno aktivna. U glodavaca za razliku od ljudi, određene izoforme, koje se prije svega javljaju u nesteroidogenim tkivima, samo su $NADPH$ -ovisne 3 -ketosteroidne reduktaze koje inaktiviraju steroidne hormone (Mason i sur., 2004.).

Steroidogeni enzimi

Citokrom P450 enzimi su odgovorni za oksidacijske reakcije. P450 enzim je sastavljen od oko 500 aminokiselina i jednog hem-a (molekula koja sadrži željezo i porfirinski prsten). Ovi su enzimi prisutni u: jetri, kori nadbubrežne žlijezde, jajnicima, testisima, bubrezima, placenti, plućima i određenim dijelovima mozga.

Oksidacijsko-redukcijska reakcija katalizirana s P450 funkcionira na sljedeći način: kisikov atom hidroksilne skupine, prikazan kao „krajnji produkt hidroksilacije“, može se izvesti iz vode ili molekularnog kisika. Poznato je da je hidroksilni kisik izveden isključivo od molekularnog kisika u svim steroidnim citokrom P450 hidroksilazama. Takvi enzimi su označeni kao oksidaze mješovite uloge. Naziv mješovite uloge znači da jedan atom supstrata kisika (O_2) završava u steroidu, a drugi kao dio vode.

Sve steroidne P450 hidroksilaze su vezane za membranu i prisutne su ili u mitohondriju ili u endoplazmatskom retikulumu. Ovisno o tome gdje se nalazi

postoje dva načina prijenosa elektrona od $NADPH$ na enzim citokrom P450. Ako se nalazi u mitohondriju postoje tri zasebna dijela: a) flavoprotein dehidrogenaza poznata kao feredoksin oksidoreduktaza, koja prihvaća elektrone od $NADPH$, b) protein željeza koji se ne nalazi u hemu, nazvan feredoksin, koji prihvaća elektrone od flavoproteina i prenosi ga na c) protein citokrom P450 hidroksilazu. Ako se nalazi u endoplazmatskom retikulumu, nedostaje feredoksin pa flavoprotein dehidrogenaza prenosi elektrone izravno na citokrom P450 enzim (Norman i Henry, 2014.).

Drugi prevladavajući steroidni enzim je hidroksisteroid dehidrogenaza (HSD). Odgovoran je za pretvorbu pregnenolona u progesteron, 17α -hidroksipregnenolona u 17α -hidroksiprogesteron, DHEA u androstenedion, androstenediola u testosteron. Svaki HSD sadrži 290-380 aminokiselina koji se koristi za prihvati ili davanje elektrona kofaktorima $NADH$ ($NADH/NAD^+$ ili $NADPH/NADP^+$). Stoga steroidni supstrat daje 2 elektrona NAD^+ . Ključna enzimatska transformacija u biosintezi steroida je cijepanje bočnog lanca kolesterola kojeg prati pretvaranje 5-en, 3β -hidroksisteroida u 4-en, 3 -oksosteroid. To je posredovano enzimom koji se nalazi na endoplazmatskom retikulumu. Isti enzim je uključen u: nadbubrežne žlijezde, jajnike, testise i posteljicu. 3β -hidroksisteroid dehidrogenaza/ $\Delta 5, \Delta 4$ izomeraza ima obvezan kofaktor NAD^+ (Norman i Henry, 2014.).

Feredoksin je protein koji predstavlja prijenosnik elektrona za sumpor/željezo u hidroksilaciji steroida. Sadrži i ugljikov-terminal i amino-terminal. N-terminal ekstenzija služi kao vodeća sekvenca koja olakšava ulazak feredoksin peptida u mitohondrij. Feredoksin prihvaća elektrone feredoksin oksidoreduktaze, koja zatim difundira u matriks mitohondrija do P450 hidroksilaze gdje

daje par elektrona (Norman i Henry, 2014.).

Primarni enzim koji katalizira cijepanje bočnog lanca kolesterola i tako potiče steroidogenezu je P450_{scc} koji stvara pregnenolon kao svoj produkt. P450_{scc} spada u liaze, koje predstavljaju enzimi koji cijepaju veze između ugljika nositelja hidroksidnih skupina.

P450_{scc} provodi tri enzimatska koraka koja su povezana s unutarnjom mitohondrijskom membranom. To uključuje odvojene 20R- i 22R-hidroksilacije koje prati cijepanje bočnog lanca na dva ugljika koji nose novostvorene hidroksilne skupine. Svaki od ovih koraka je oksidacijsko-redukcijska reakcija te su potrebni elektroni dobiveni od NADPH.

17 α -Hidroksilaza/C-17 α ,20 Liaza (P450_{c17}) predstavlja još jedan enzim koji obavlja i reakciju hidroksilacije i cijepanje C-C (ugljikove) veze, a koji se nalazi na tri mjesta: *zona reticularis* nadbubrežne žlijezde, Leydigovim stanicama testisa i theca te granulozna stanicama jajnika (Norman i Henry, 2014.).

Hidroksilacija posredovana enzimom 21-hidroksilaza (P450_{c21}) važna je za pretvorbu progesterona u deoksikortikosteron u zoni glomerulosa (mineral-kortikoidi) i 17-hidroksi-progesterona u 11-deoksikortizol u zoni fasciculate (glukokortikoid). P450_{c21} se nalazi u endoplazmatskom retikulumu, a njegov nedostatak na genima dovodi do pojave CAH-a (kongenitalne adrenalne hiperplazije) (Norman i Henry, 2014.).

Aromatizacija prstena A, bilo testosterona u estradiol ili androst-4-en-3,17-diona u estron, posredovana je pomoću P450_{aro}. P450_{aro} je prisutan u endoplazmatskom retikulumu jajnika i placente, a u određenoj količini u mozgu, kostima i masnom tkivu (Norman i Henry, 2014.).

Pretvorba testosterona u dihidrotosteron je posredovana s 5 α -reduktazom. 5 α -reduktaza je NADPH ovisan enzim koji ne pripada P450, a prisutan je u nu-

klearnoj membrani ciljnih stanica za testostosterone, kao što su: sjemene vrećice, koža epididimisa, folikuli dlake i jetra. Nalazi se u nižim koncentracijama u ne-genitalnoj koži, testisima i bubrezima (Norman i Henry, 2014.).

17-ketosteroid reduktaza (AKR1C3) predstavlja enzim koji ne pripada P450, a nalazi se u endoplazmatskom retikulumu, Za njegovo djelovanje potreban je NADPH, a katalizacijske reakcije su pritom reverzibilne, a nalazi se u testisima, jajnicima i placenti (Norman i Henry, 2014.).

Muški spolni hormoni

Pojam androgen se odnosi na prirodni ili sintetički spoj koji potiče ili regulira razvoj i održavanje obilježja mužjaka. Androgeni se većinom sintetiziraju u testisima, iako i ženke stvaraju manje količine, koje su važne za pozitivnu ravnotežu proteina, održavanje jakih mišića i kostiju te pridonose libidu. Najvažnija dva androgena kojeg izlučuju testisi su: testosteron i 5 α -dihidrotosteron (5 α -DHT). Osim njih, postoje i dva slabija androgena koji se ponajprije sintetiziraju u kori nadbubrežne žlijezde, a u manjoj mjeri u testisima i jajnicima. To su: dehidroepiandrosteron (DHEA) i androstenedion koji se metaboliziraju u testosteron i druge androgene. Primjerice, u plazmi jednogodišnjih muških grla goveda zabilježena je najviša razina testosterona od 9,44 \pm 5,47 ng/mL (Pleadin i sur., 2011.). Postoji zajednički androgeni receptor (AR) na koji se vežu svi androgeni iako se genomski razlikuju. Testosteron je najobilniji, a 5 α -DHT najjači androgen (ima veći afinitet za vezanje na AR) (Chedrese, 2009.).

Najvažniji androgeni hormon je testosteron, kojeg stvaraju Leydigove stanice smještene između sjemenih kanalića. Testosteron potiče stvaranje spermija, razvoj spolnih karakteristika

mužjaka i rast kostiju i miškulature (anaboličko djelovanje), a utječe i na psihološki razvoj i seksualni nagon mužjaka (Cergolj i Samardžija, 2006., Sjaastad i sur., 2006.).

Hipofiza izlučuje LH koji stimulira intersticijske stanice testisa na stvaranje androgena. Manje se količine stvaraju i u nadbubrežnoj žlijezdi, jajnicima i posteljici. Po kemijskoj strukturi to su steroidi s 19 C-atoma. Imaju dvostruku kovalentnu vezu između C-4 i C-5 ili između C-5 i C-6 atoma, dok je ta veza reducirana kod dihidrotestosterona (DHT). Metaboliti testosterona (androstanioli) imaju reduciranu dvostruku vezu i hidroksilnu skupinu na C-3, a metaboliti androstendiona još i ketoskupinu na C-18. Biološki su najaktivniji testosteron i dihidrotestosteron, a tu aktivnost određuje hidroksilna skupina na C-17 u -položaju (Čvorišćec i Čepelak, 2009.).

Androgeni se sintetiziraju u Leydigovim stanicama testisa iz acetata i supstrata kolesterola, ugrađenog iz cirkulacije u obliku lipoproteina niske gustoće (LDL). LH stimulira biosintezu testosterona tako što povećava količinu i prijenos kolesterola. Kolesterol se doprema iz vanjske u unutarnju membranu mitohondrija uz pomoć steroidogenog akutnog regulatornog proteina (StAR). U mitohondriju, kolesterol se pretvara u pregnenolon - prekursor koji je potreban za stvaranje svih steroidnih hormona. Nakon toga se kolesterol s 27 C-atoma cijepa dva puta kako bi se dobio pregnenolon s 21 C-atoma. Ovaj se proces odvija kroz 5 enzimskih koraka: 1) redukcija bočnog lanca kolesterola uz enzim citokrom P450 (P450_{sc}) kako bi nastao pregnenolon s 21 C-atoma. Ovaj je korak reguliran pomoću LH, koji kontrolira ukupnu sintezu testosterona; 2) hidroksilacija/izomerizacija steroida je katalizirana putem 3 β -hidroksisteroid-dehidrogenaze/ Δ^4 - Δ^5 izomeraze (3 β -HSD). Zbog aktivnosti izomeraze, 3 β -HSD preusmjerava sintezu steroida s Δ^5 -puta na Δ^4 -put. Tako,



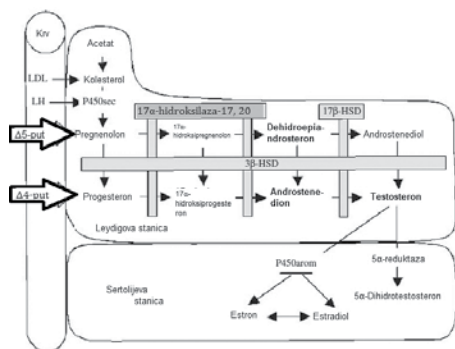
Slika 3. Biosinteza androgena, Δ^5 i Δ^4 put (Norman i Henry, 2014.)

uporabom 4 različita supstrata: pregnenolona, 17 α -pregnenolona, DHEA i androstenediola, 3 β -HSD može sintetizirati progesteron, 17 α -progesteron, androstenedion i testosteron (Chedrese, 2009.). Kod Δ^5 puta događa se pretvaranje pregnenolona do testosterona, cijepanjem ugljika 20 i 21 koje se događa prije oksidacije 3 β -hidroksilne skupine te premještanje duple veze s Δ^5 na Δ^4 mjesto. Kod Δ^4 puta, ova su dva koraka zamijenjena. Δ^5 put prevladava u ljudi, a Δ^4 put u glodavaca (Norman i Henry, 2014.); 3) progesteron se hidroksilira u 17 α -hidroksiprogesteron pomoću 17 α -hidroksilaze; 4) 17 α -hidroksilaza pretvara 17 α -hidroksiprogesteron s 21 C-atoma u androstenedion s 19 C-atoma; 5) +17 β -hidroksisteroid dehidrogenaza (17 β -HSD) pretvara androstenedion u testosteron (Chedrese, 2009.). (Slika 3).

Testosteron ulazi u cirkulaciju vezan za serumski albumin i za globulin koji veže spolne hormone (engl. *sex hormone binding globuline*; SHBG), glikoprotein koji se većinom stvara u jetri (Griffin i Wilson, 1998.). Oko 2% se disocira od proteina i difuzijom izravno ulazi u stanicu. Testosteron se pretvara u snažniji androgen 5 α -DHT pomoću 2 izoenzima: 5 α -reduktaza-1 i 5 α -reduktaza-2. Testosteron je aromatiziran i u estradiol-17 β pomoću citokrom P450 aromataze (P450_{arom}) u perifernom tkivu. Estradiol-17 β je glavni steroidni hormon ženki koji je u manjim količinama potreban mužjacima

za održavanje zdravih kostiju, živčano i srčano zdravlje, spermatogenezu i zdrav libido. Ukupno se oko 80% cirkulirajućeg 5α -DHT i estradiol- 17β u mužjaka dobiva perifernom konverzijom. Jetra pretvara cirkulirajuće androgene (testosteron i DHT) u različite metabolite, uključujući androsteron i etiolokolanolon. Nakon konjugacije s glukuronskom ili sumpornom kiselinom, androgeni se metaboliti izlučuju mokraćom kao 17-ketosteroidi, a predstavljaju 20-30% ukupnih 17-ketosteroida mokraće. Ostatak 17-ketosteroida u mokraći potječe kao metabolizam nadbubrežnih steroida (Chedrese, 2009.).

Enzim odgovoran za pretvorbu testosterona u DHT je $\Delta 4$ -3-ketosteroid- 5α -oksidoreduktaza koja zahtijeva NADPH kao kofaktor. U glodavaca i ljudi, postoje dva oblika 5α -reduktaze. Tip 1 5α -reduktaza je izražena u koži, jetri i mozgu i smatra se da je odgovorna za inaktivaciju katabolizma testosterona. Tip 2 5α -reduktazu nalazimo u prostati i drugim muškim spolnim žlijezdama, folikulima dlaka, jetri i mozgu. Ovo je enzim koji katalizira aktivnost povećanog stvaranja DHT-a. Dvije se reduktaze nalaze na različitim genima. DHT ima veći afinitet prema androgenskom receptoru od testosterona i veću sposobnost u poticanju promjena u ekspresiji gena kada se veže za androgenski receptor (Norman i Henry, 2014.).



Slika 4. Put biosinteze testosterona [Chedrese, 2009.]

Aromatizacija testosterona u estradiol događa se u nekoliko tkiva, uključujući masno tkivo, testise (Sertolijeve i Leydigove stanice), mozak, kosti, jetru i krvne žile. U ovim tkivima androstenedion može biti aromatiziran stvarajući slabi estrogen estron, koji se zatim može metabolizirati u estradiol redukcijom 17-keto skupine putem 17β -hidroksisteroid-dehidrogenaze (Norman i Henry, 2014.). (Slika 4).

Ženski spolni hormoni

Glavni predstavnici ženskih spolnih hormona su 17β -estradiol i progesteron. Sintetiziraju se iz kolesterola i to putem *corpus luteum* jajnika i placente. Produkcija progesterona od strane *corpus luteuma* i estradiola od strane theca i granulosa stanica događa se na sljedeći način; kolesterol je polazna točka za proizvodnju i progesterona i estradiola. Postoje dva puta od dehidroepiandrosterona (DHEA) do 17β -estradiola. Glavni put je preko androst-4-en-3, 17diona i estrona. Drugi put je preko androste-5-en-3 β , 17β -diola i testosterona te predstavlja manji put (Norman i Henry, 2014.).

Estrogeni su ženski spolni hormoni odgovorni za razvoj i održavanje ženskih spolnih organa i sekundarnih spolnih karakteristika. Tijekom gravidnosti djeluje zajedno s progesteronom, a osim toga povoljno djeluje na gustoću kostiju (Čvorišćec i Čepelak, 2009.). Estrogeni su steroidi s 18 C-atoma i aromatiziranim prstenom A. Nemaju metilnu skupinu na C-10, dok na C-17 imaju ketoskupinu ili hidroksilnu skupinu, a neki imaju hidroksilnu skupinu i na C-16. Svi imaju hidroksilnu skupinu na C-3. Biološku aktivnost hormona uvjetuju fenolni prsten i keto skupina, odnosno hidroksilna skupina na C-17. Supstituenti na bilo kojem drugom C-atomu smanjuju njihovu biološku aktivnost pa su estriol s hidroksilnom skupinom na C-16 ili 2-metoksiestron s metoksi-skupinom

na C-2 vrlo slabo biološki aktivni, a najaktivniji estrogen je estradiol (Čvorišćec i Čepelak, 2009.).

17 β -estradiol i estron se najvjerojatnije mogu pretvarati jedan u drugog. Oba hormona izlučuju jajnici, a metabolički produkt navedena dva hormona je estron čija se sinteza odvija u jetri. Tijekom gravidnosti posteljica izlučuje i do 300 puta više estrogena od jajnika u vrijeme normalnog spolnog ciklusa. Izlučuje se i u manjim količinama prije spolne zrelosti, da bi se tijekom spolne zrelosti količina povećala oko 20 puta. 17 β -estradiol je najvažniji hormon u razvoju sekundarnih spolnih karakteristika. Uglavnom ga izlučuju jajnici te žuto tijelo, a u manjoj količini i testisi i nadbubrežna žlijezda (Tomašković i sur., 2007.).

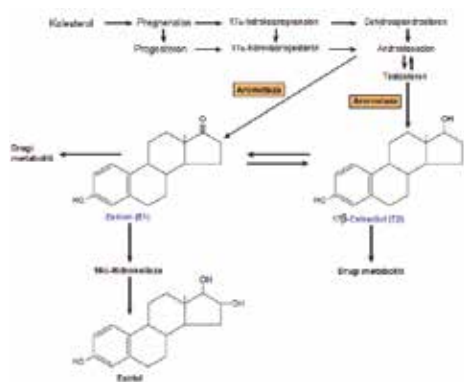
Estrogeni nastaju na jedinstvenom putu biosinteze steroidnih hormona iz acetata preko kolesterola, pregnenolona, progesterona i androgena. Prsten A testosterona i androstendiona aromatizira se uz enzime iz skupine citokrom P450arom (aromataze). Pri tome se najprije hidroksilira CH₃-skupina na C-19, što katalizira enzim 19-hidroksilaza. Time nastaju 19-hidroksitestosteron i 19-hidroksiandrostendion, na koje dalje djeluje enzim 19-oksidaza, koja ih prevodi u 19-oksotestosteron, odnosno 19-oksoandrostendion. Na 19-oksotestosteron djeluje enzim C-10,19-liaza pa se odcjepiljuje C-19 i vodik na C-1 kao formaldehid, a između C-1 i C-10 nastaje dvostruka veza. Nastali 3-okso-androst-1(10),4-dien sam od sebe se aromatizira u estradiol. Na analogan način nastaje i androstendiona estron.

Biosinteza u gravidnih jedinki razlikuje se od one u jedinki u reproduktivnoj dobi. U gravidnih životinja je glavni izvor estrogena posteljica. Dok se u jajniku najvećim dijelom stvara estradiol, koji se metabolizira u svoj krajnji produkt estriol, posteljica najvećim dijelom izlučuje već stvoreni estriol. No, ona nema potrebnih enzima za sintezu estrogena iz

acetata, kolesterola i pregnenolona, nego se koristi već stvorenim testosteronom i androstendionom u organizmu majke ili fetusa. U posteljici se samo obavlja aromatizacija prstena A za koju ona posjeduje potrebne enzime. Posteljica ne posjeduje ni enzim 16 α -hidroksilazu, koja se nalazi u nadbubrežnoj žlijezdi i jetri fetusa. Posteljica prima već gotovi DHEA-S hidroksiliran na C-16, koji je potreban za stvaranje estriola. Izlučivanje estriola tijekom gravidnosti postupno raste i do tisuću puta. Osim enzima potrebnih za aromatizaciju prstena A, posteljica posjeduje i vrlo aktivnu sulfatazu i 5-en-3 β -hidroksisteroid-dehidrogenazu/izomerazu potrebne za hidrolizu 16 α -hidroksidehidroepiandrosteron-sulfata i pretvorbu Δ 5 u Δ 4 derivat. Budući da se u fetusu stvara preteča 16 α -hidroksidehidroepiandrosteron-sulfat, a u posteljici nastavlja daljnja pretvorba u estriol, smatra se da fetoplacentna jedinica stvara estriol. Zato će poremećaji u fetusu ili u posteljici rezultirati smanjenim stvaranjem estriola pa je izlučivanje estriola u mokraći dobar pokazatelj fetoplacentnog statusa (Čvorišćec i Čepelak, 2009.).

Metabolizam estrogena složeni je proces u kojem se stvara niz derivata, a obavlja se u jetri. Dolazi do slijedećih reakcija: a) oksidoredukcija 17 β -hidroksilne skupine uz enzim estradiol 17 β -hidroksisteroid-dehidrogenazu (reverzibilna reakcija estron \leftrightarrow estradiol); b) hidroksilacija na C-2 uz kasniju metilaciju (nastaju katekol-estrogeni 2-hidroksiestriol i njihovi odgovarajući metoksi-derivati); c) daljnja hidroksilacija ili stvaranje ketona na C-6 α , C-6 β , C-7 α , C-14 α , C-15 α , C-16 α , C-16 β i C-18.

Osim navedenih glavnih putova poznati su i sljedeći: a) demetilacija metoksiderivata estradiola, estrona i estriola i b) epoksidacija čiji su krajnji produkti estriol i epiestriol. Krajnji metabolički produkti konačno se



Slika 5. Biosinteza estrogena (Rodwell i sur., 2015.)

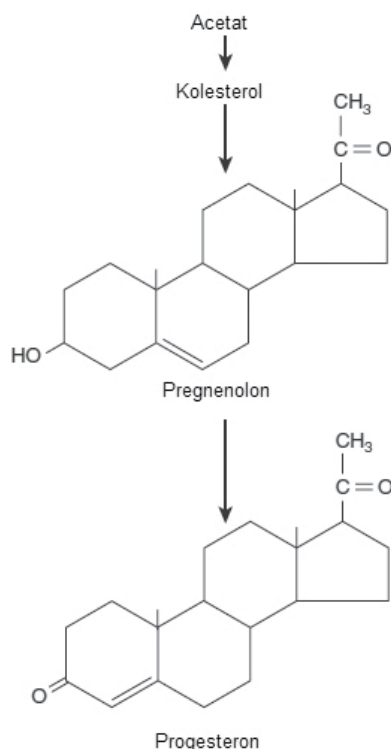
konjugiraju u jetri s glukuronskom ili sumpornom kiselinom pa postaju bolje topljivi u vodi i mogu se izlučiti mokraćom (Čvorišćec i Čepelak, 2009.). (Slika 5).

Progesteron je ženski spolni hormon koji zajedno s estrogenima sudjeluje u regulaciji ciklusa. U negravidnih ženki progesteron se stvara i izlučuje iz žutog tijela, a u gravidnih je glavni izvor hormona posteljica. Nešto se malo progesterona stvara i u nadbubrežnoj žlijezdi i testisima (Čvorišćec i Čepelak, 2009.). Njegova je uloga da djeluje kao antagonist estrogenim hormonima, povećava viskoznost cerviksa, povećava bazalnu temperaturu tijela, potiče razvoj mliječnih žlijezda (Meyer, 2001.). Bitan je za pravilan spolni ciklus krava i junica. Smanjuje izlučivanje GnRH te time sprječava ovulaciju tijekom lutealne faze spolnog ciklusa mehanizmom negativno povratne sprege, a i priprema endometriju za nidaciju (prihvat) zametka u razvoju te sprječava nekontrolirane kontrakcije miškulature maternice. Svojim biološkim djelovanjem priprema spolne organe za početak i tijekom gravidnosti (Tomašković i sur., 2007.).

Progesteron je steroid s 21 C-atomom. Sadržava ketoskupinu na C-3 i dvostruku vezu između C-4 i C-5, koji su bitni za njegovu biološku aktivnost. Na položaju

C-17 ima postranični lanac $-\text{CO}-\text{CH}_3$ (Čvorišćec i Čepelak, 2009.). Nastaje iz acetata preko kolesterola i pregnenolona. Metabolizira se kao i ostali steroidni hormoni redukcijom dvostruke veze između C-4 i C-5 i keto skupina na C-3 i C-20. (Slika 6).

U redukciji sudjeluju isti enzimi kao kod metabolizma kortikosteroida. Najprije se reducira dvostruka veza uz enzime 4-en-5 α i 4-en-5 β reduktazu i nastaju dva izomera, pregnandion i allo-pregnandion. Nakon toga reducira se keto skupina na C-3 uz 3 α i 3 β -hidroksisteroid-dehidrogenazu. Nastaju pregnanolon i allo-pregnanolon. Konačno se reducira i keto skupina na C-20 uz 20 α i 20 β -hidroksisteroid-dehidrogenazu. Nastali su metaboliti



Slika 6. Biosinteza progesterona (Rodwell i sur., 2015.)

izomerni pregnandioli, među kojima prevladava 5 β -pregnan-3 α ,20 α -diol, koji se konjugira s glukuronskom kiselinom i izlučuje mokraćom (Čvorišćec i Čepelak, 2009.).

Zaključna razmatranja

Spolni hormoni odgovorni su za razvoj reproduktivnog sustava jedinke te njihov fiziološki učinak u organizmu. Steroidni spolni hormoni ostvaruju svoju funkciju na jedan od dva načina. Prvi je organizirajući učinak koji se odnosi na kontrolu hormona ranog razvoja gdje imaju ključnu ulogu u strukturi i funkciji određenih organa, dok je drugi direktni učinak kojim djeluju na spolni ciklus i ponašanje. Steroidi se da bi mogli ostvariti svoje djelovanje, moraju vezati za hormonske receptore. Njihovi učinci posredovani su polaganim genomskim mehanizmima preko staničnih receptora i brzim negenomskim mehanizmima preko receptora vezanih za membranu i signalizacijskim kaskadama. Regulacijski ciklus proizvodnje spolnih hormona je složen proces, a uvelike ovisi o samoj funkciji gonada koji su glavni proizvođači tih steroida.

Progesteron, testosteron i estradiol imaju višestruke uloge u spolnim ciklusima, a njihova funkcija primarno ovisi o fiziološkoj sintezi samih hormona. U ovom radu opisani su biokemijski mehanizmi nastanka pojedinih steroidnih spolnih hormona na koje utječe veliki broj čimbenika s krajnjim ciljem fiziološkog djelovanja hormona u organizmu životinja.

Sažetak

Spolni hormoni su steroidi koji se preko višestrukih biokemijskih mehanizama sintetiziraju u gonadama. U sustavima sisavaca postoji šest skupina steroidnih hormona koji se mogu klasificirati na strukturnoj i biološkoj (hormonskoj) osnovi. To su: estrogeni i

progestini (ženski spolni steroidi), androgeni (muški spolni steroidi), mineralokortikoidi (aldosteron), glukokortikoidi (kortizol) i vitamin D. Svi navedeni steroidi nastaju iz kolesterola. Glavna struktura prstena za kolesterol je potpuno zasićena kolestanska struktura prstena. Steroidni hormoni su topljivi u mastima tako da mogu ulaziti u sve stanice tijela, jer lipidne stanične barijere ne predstavljaju pravu barijeru. Regulacijski ciklus proizvodnje spolnih hormona je složen proces, a svi mehanizmi se odvijaju preko osovine hipotalamus – hipofiza – jajnici. Biosinteza hormona uvjetuje spolni ciklus životinje, ali ovisi i o spolnom ciklusu same jedinke. Biosinteza u gravidnih životinja razlikuje se od one u reproduktivnoj dobi. U gravidnih životinja je glavni izvor estrogena posteljica. Muški spolni hormoni (androgeni) su steroidi s 19 C-atoma, a ženski s 18 C-atoma (estrogeni) i 21 C-atomom (progesteron). Androgeni se sintetiziraju u Leydigovim stanicama iz kolesterola, progesteron u žutom tijelu (*corpus luteum*), a estrogeni u jajnicima i žutom tijelu, manje u testisima i nadbubrežnoj žlijezdi. Tijekom biosinteze pregnenolon je važan prekursor koji je potreban za stvaranje svih steroidnih hormona. Reakcije kataliziraju enzimi kao što su: P450_{scc}, StAR, 5 α -reduktaza. Najaktivniji estrogen je 17 β -estradiol, a testosteron 5 α -dihidrotestosteron (5 α -DHT). Progesteron, testosteron i estradiol imaju višestruke uloge u spolnim ciklusima, a njihova funkcija u organizmu u ovisnosti je o fiziološkoj sintezi samih hormona.

Ključne riječi: spolni hormoni, androgeni, estrogeni, progesteron, biokemija

Literatura

- ALPY, F., M. E. STOECKEL and A. DIERICH (2001): The steroidogenic acute regulatory protein homolog MLN64, a late endosomal cholesterol binding protein. *J. Biol. Chem.* 276, 4261-4269.
- ARTHUR, G. H., D. E. NOAKES, H. PEARSON and T. J. PARKINSON (1997): *Veterinary reproduction and obstetrics*, 7th edition, W. B. Saunders Company, London.
- BAO, B. and H. A. GARVERICK (1998): Expression of steroidogenic enzyme and gonadotropin receptor gene in bovine follicles during ovarian follicular waves: a review. *J. Anim. Sci.* 76, 1903-1921.
- BOSE, M., R. M. WHITTAL and C. G. GAIROLA (2008): Molecular mechanism of reduction in

- pregnenolone synthesis by cigarette smoke. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 229, 56-64.
5. BRENTANO, S. T., S. M. BLACK and D. LIN (1992): cAMP post-transcriptionally diminishes the abundance of adrenodoxin reductase mRNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 89, 4099-4103.
 6. CERGOLJ, M. i M. SAMARDŽIJA (2006): Veterinarska andrologija (M. Samardžija, ur.). Veterinarski fakultet Sveučilište u Zagrebu.
 7. CHEDRESE, P. (2009): Reproductive endocrinology; A molecular approach. Springer Science.
 8. CLARK, B. J., V. RANGANATHAN and R. COMBS (2001): Steroidogenic acute regulatory protein expression is dependent upon post-translational effects of cAMP-dependent protein kinase A. *Mol. Cell. Endocrinol.* 173, 183-192.
 9. ČVORIŠEĆ, D. i I. ČEPELAK (2009): Štrausova medicinska biokemija. Medicinska naklada, Zagreb.
 10. DYSON, M. T., J. K. JONES and M. P. KOWALEWSKI (2008): Mitochondrial A-kinase anchoring protein 121 binds type II protein kinase A and enhances steroidogenic acute regulatory protein-mediated steroidogenesis in MA-10 mouse Leydig tumor cells. *Biol. Reprod.* 78, 267-277.
 11. FERGUSON, J. J., Jr. (1963): Protein synthesis and adrenocorticotropin responsiveness. *J. Biol. Chem.* 238, 2754-2759.
 12. GREENSPAN, F. S. and J. D. BAXTER (1994): Basic & clinical endocrinology, 4th edition, Appleton & Lange.
 13. GRIFFIN, J. E. and J. D. WILSON (1998): Disorders of the testes and the male reproductive tract. In: Wilson J. D. et al., (ed.), *Williams Textbook of Endocrinology*. 9th edition, W. B. Saunders company, Philadelphia, pp. 819-876.
 14. KRUEGER, R. J. and N. R. ORME-JOHNSON (1983): Acute adrenocorticotrophic hormone stimulation of adrenal corticosteroidogenesis. Discovery of a rapidly induced protein. *J. Biol. Chem.* 258, 10159-10167.
 15. LAMBETH, J. D., D. W. SEYBERT and J. R. LANCASTER (1982): Steroidogenic electron transport in adrenal cortex mitochondria. *Mol. Cell. Biochem.* 45, 13-31.
 16. MANNA, P. R., S. P. CHANDRALA and Y. JO (2006): cAMP-independent signaling regulates steroidogenesis in mouse Leydig cells in the absence of StAR phosphorylation. *J. Mol. Endocrinol.* 37, 81-95.
 17. MASON, J. I., B. E. HOWE and A. F. HOWIE (2004): Promiscuous 3beta-hydroxysteroid dehydrogenases: testosterone 17beta-hydroxysteroid dehydrogenase activities of mouse type I and VI 3beta-hydroxysteroid dehydrogenases. *Endocrin. Res.* 30, 709-714.
 18. MEYER, H. H. D. (2001): Biochemistry and physiology of anabolic hormones used for improvement of meat production. *Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scan.* 109, 1-8.
 19. MILLER, W. L. (2005): Minireview: regulation of steroidogenesis by electron transfer. *Endocrinology* 146, 2544-2550.
 20. NORMAN, A. W. and H. L. HENRY (2014): *Hormones*, 3rd edition, Academic Press.
 21. PAYNE, A. H., I. G. ABBASZADE and T. R. CLARKE (1997): The multiple murine 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase isoforms: structure, function, and tissue- and developmentally specific expression. *Steroids* 62, 169-175.
 22. PESCADOR, N., K. SOUMANO and D. M. STOCCO (1996): Steroidogenic acute regulatory protein in bovine corpora lutea. *Biol. Reprod.* 55, 485-491.
 23. PLEADIN, J., S. TERZIĆ, N. PERŠI and A. VULIĆ (2011): Evaluation of steroid hormones anabolic use in cattle in Croatia. *Biotechnol. Anim. Husband.* 27, 147-159.
 24. PONTING, C. P. and L. ARAVIND (1999): START: a lipid-binding domain in STAR, HD-ZIP and signaling proteins. *Trends. Biochem. Sci.* 24, 130-132.
 25. PRASAD, V. V., L. PONTICORVO and S. LIEBERMAN (1984): Identification of 24-hydroxycholesterol in bovine adrenals in both free and esterified forms and in bovine brains as its sulfate ester. *J. Steroid. Biochem.* 21, 733-736.
 26. RODGERS, R. J., M. R. WATERMAN and E. R. SIMPSON (1986): Cytochromes P450_{scc}, P450(17) α , adrenodoxin, and reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-cytochrome P450 reductase in bovine follicles and corpora lutea. Changes in specific contents during the ovarian cycle. *Endocrinology* 118, 1366-1374.
 27. RODWELL, A. W., D. A. BENDER, K. M. BOTHAM, P. J. KENNELLY and P. A. WEIL (2015): Harper's illustrated biochemistry, 30th edition, McGraw Hill.
 28. RUPIC, V. (2015): Reprodukcijska domaćih životinja, Zrinski d.d.
 29. SEKAR, N., H. A. LAVOIE and J. D. VELDTHUIS (2000): Concerted regulation of steroidogenic acute regulatory gene expression by luteinizing hormone and insulin (or insulin-like growth factor I) in primary cultures of porcine granulosa-luteal cells. *Endocrinology* 141, 3983-3992.
 30. SJAASTAD, O. V., O. SAND and K. HOVE (2016): *Physiology of Domestic Animals*, Third Edition, Scandinavian Veterinary Press.
 31. STARLING, E. (1909): *The fluids of the body*. University of California Libraries.
 32. STOCCO, D. M. and B. J. CLARK (1996): Regulation of the acute production of steroid in steroidogenic cells. *Endo. Rev.* 17, 221-244.
 33. TOMAŠKOVIĆ, A., Z. MAKEK, T. DOBRANIĆ i M. SAMARDŽIJA (2007): Rasplodivanje krava i junica. (M. Samardžija i sur., ur.). Veterinarski fakultet Sveučilište u Zagrebu.

Biochemical mechanisms of sex hormones synthesis in domestic mammals

Erika GAMULIN, DVM, Zagreb, Croatia; Marko SAMARDŽIJA, DVM, PhD, Full Professor, Ivan BUTKOVIĆ, DVM, Assistant, Faculty of Veterinary Medicine University of Zagreb, Croatia; Jelka PLEADIN, BSc, PhD, Scientific Advisor, Associate Professor, Croatian Veterinary Institute, Zagreb, Croatia

Sex hormones are steroids synthesized by the gonads through multiple biochemical mechanisms. In mammalian systems, there are six groups of steroid hormones that can be classified on both a structural and a biological (hormonal) basis. They are the oestrogens and progestins (female sex steroids), androgens (male sex hormones), mineralocorticoids (aldosterone), glucocorticoids (cortisol) and vitamin D. They are all derived from cholesterol. The parent ring structure for cholesterol is the fully saturated ring structure cholestane. Steroid hormones are fat-soluble, enabling their entry into all body cells as lipid cellular barriers are not a barrier for them. Regulatory cognitive production of sex hormones is a complex process, and all mechanisms take place through the hypothalamus-pituitary-ovarian linkages. Hormone biosynthesis determines the sex cycle of the animals, but also depends on the sex cycle of the same individuals, therefore biosynthesis in pregnancy is different from that in reproductive age. Pregnancy is characterized by a massive increase in the pro-

duction of both progesterone and oestrogen. The increase in progesterone and oestradiol production occurs only in the placenta. Male sex hormones (androgens) are steroids with 19 C-atoms, while female hormones are steroids with 18 C-atoms (oestrogens) and 21 C-atoms (progesterone). Androgens are synthesized in the Leydig's cells, progesterone in the corpus luteum, and oestrogen in the ovaries and corpus luteum, while lesser amounts are produced in the testicles and the adrenal gland. In the mitochondria, cholesterol is converted into pregnenolone, the precursor steroid required for synthesis of all the steroid hormones. The reactions are catalysed by enzymes such as: P450_{scc}, StAR, 5 α -reductase. The most active oestrogen is 17 β -oestradiol, and testosterone 5 α -dihydrotestosterone (5 α -DHT). Progesterone, testosterone and oestradiol have multiple roles in sex cycles, and their function depends on the physiological synthesis of the hormones themselves.

Key words: *sex hormones, androgens, oestrogens, progesterone, biochemistry*